

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

SUR LA RÉSISTANCE DES POULES

A L'INFECTION PAR LE « SPIROCHÈTA GALLINARUM »
APRÈS THYROÏDECTOMIE OU SPLÉNECTOMIE

par L. LAUNOY et M. LÉVY-BRÜHL

Au cours des recherches hématologiques sur la spirillose des poules [1], nous avons été frappés de certains caractères de cette affection qui en font un objet particulièrement favorable pour l'étude de l'immunité et de la résistance de l'organisme à l'infection. On observe, en effet, d'une part, une évolution clinique toujours identique, à marche cyclique, accompagnée de réactions sanguines constantes et très nettes; d'autre part, l'établissement d'un état d'immunité absolue avec pouvoir vaccinant du sérum de la poule guérie.

L'existence au cours de cette affection d'une splénomégalie déjà signalée par Marchoux et Salimbeni [2] dans leur étude de la spirillose spontanée des poules du Brésil (rate triplée de volume), splénomégalie que nous avons retrouvée dans l'infection expérimentale, et la constatation de l'hypertrophie de glandes thyroïdes, nous ont amenés à rechercher si ces organes jouent un rôle essentiel dans la résistance de l'animal à l'infection et dans la production des anticorps, et si leur ablation préalable modifie l'évolution de la maladie. Nous apportons ici les résultats de ces expériences.

Nous nous servions de poules adultes, du poids de 1 à 2 kilogrammes, que nous infections avec du sérum frais ou

conservé à la glacière. Nous ne reviendrons pas ici sur les caractères cliniques et hématologiques de l'affection ainsi produite (voir notre mémoire précédent). Rappelons seulement que la poule guérie se trouve immunisée contre un nouvel essai de réinfection et que, de plus, son sérum possède un pouvoir vaccinant; injecté préventivement à un animal neuf, il prévient le développement de la spirillose.

I. — ROLE DES GLANDES THYROÏDES

La participation des glandes thyroïdes à l'établissement de l'état d'immunité active a fait l'objet d'une série de recherches :

M^{me} Fassin [3] a observé, après thyroïdectomie, une diminution de l'alexine hémolytique et bactéricide.

Marbé [4] a trouvé après thyroïdectomie une diminution des pouvoirs opsoniques et phagocytaires.

Frouin [5] a confirmé partiellement les faits relatifs à la diminution de l'alexine, mais il a vu, d'autre part, que les chiens éthyroïdés, immunisés contre la toxine tétanique, fournissent un sérum dont les propriétés antitoxiques sont plutôt supérieures à celles du sérum des animaux normaux pareillement traités.

G. Lerda et S. Diez [6] ont vu que les cobayes thyroïdectomisés résistaient aux intoxications (toxines tétanique et diphtérique, strychnine, caféine) à peu près aussi bien que les cobayes normaux.

Fjeldstad [7] n'a pas trouvé de différence appréciable dans le degré d'immunité et dans la rapidité de son développement chez les lapins thyroïdectomisés et les lapins normaux vaccinés avec le bacille d'Eberth.

Dans toutes ces recherches, il s'agit en somme de réactions artificiellement provoquées dans l'organisme par des agents microbien ou toxiques qui ne réalisent pas une maladie déterminée comparable à celles qu'on observe en clinique. Dans nos expériences, au contraire, nous avons cherché dans quelle mesure les glandes thyroïdes intervenaient dans la

résistance à l'infection et la production de l'état d'immunité au cours d'une maladie bien caractérisée.

Nos expériences ont porté sur cinq poules, simplement éthyroïdées, ou éthyroïdées et partiellement paraéthyroïdées (1).

Voici les résultats obtenus :

PREMIÈRE SÉRIE. — Poule I. 9 juin 1913, ablation des deux thyroïdes et d'un groupe parathyroïde à gauche. 13 juin, injection de 0 c.c. 5 de virus, relativement atténué. Le 16, très rares spirilles; le 18, plus de spirilles. Signes cliniques habituels; le 20, l'animal est complètement guéri. L'autopsie vérifie l'intervention.

Poule II, témoin. Infection le 13, avec 0,5 c.c. du même virus. Spirilles dans le sang les 16, 17 et 18. Donc, pendant vingt-quatre heures de plus que la poule I.

DEUXIÈME SÉRIE. — Poule III, 4 kilogr. 250. 11 juin, ablation des deux thyroïdes et du groupe parathyroïdien droit. Infection le 27, avec 0,2 c.c. de virus Argas (premier passage). Spirilles les 28, 29 et 30 juin. Suites normales. Survie. L'autopsie confirme l'ablation glandulaire (2).

Poule IV, 1 kil. 700. 21 juin, ablation des deux thyroïdes; le 27, infection avec 0,2 c.c. de virus Argas. Spirilles du 28 juin au 2 juillet inclus. Survie. L'autopsie confirme l'intervention.

Poule V, témoin des deux précédentes, 27 juin, infection avec 0,2 c.c. du même virus. Spirilles du 29 juin au 1^{er} juillet inclus. Survie.

TROISIÈME SÉRIE. — Poule IV. 26 juin, ablation des deux thyroïdes et du groupe parathyroïdien gauche. Le 27, injection de 0,5 c.c. de virus Argas. Quatre jours de septicémie. Survie. L'autopsie confirme l'exérèse.

Poule VII, témoin. Infection le 27, avec 0,5 c.c. de virus Argas. Cinq jours de septicémie. Mort le 2 juillet.

(1) *Le procédé opératoire, suivi pour l'ablation des thyroïdes chez la poule, a été décrit avec détails par l'un de nous : L. LAUNOY, Thyroïdes, Parathyroïdes, Thymus, Thèse d'agrégation, J.-B. Baillière. Paris, 1914.*

(2) Nous désignons sous le nom de « virus Argas » le virus obtenu chez une poule infectée au moyen du sang d'un animal auquel la maladie avait été transmise par des Argas spirillo-sés.

QUATRIÈME SÉRIE. — Poule VIII. 2 juillet, thyroïdectomie bilatérale. Le 5 juillet, 0,5 c.c. virus Argas. Trois jours de septicémie. Survie.

Poule IX. Normale, simulacre d'opération. Le 14 juillet, 0,5 c.c. virus Argas. Le 16 juillet, rares spirilles; le 17, très nombreux spirilles. Mort dans la soirée.

Ainsi, chez des animaux respectivement infectés de *spirochæta gallinarum*: un, quatre, six, seize jours après l'ablation des thyroïdes, avec ou sans parathyroïdectomie partielle, la résistance à l'infection n'a nullement été diminuée. Les trois poules éthyroïdées ont survécu, deux témoins sur quatre ont succombé.

La recherche du pouvoir immunisant du sérum après infection nous a montré que le sérum des poules éthyroïdées était aussi actif que celui des animaux témoins ayant survécu. Cette étude a été faite sur 8 poussins dont le poids variait entre 167 et 190 grammes.

Chez trois animaux pesant respectivement 167, 187 et 190 grammes, l'injection intraveineuse — faite vingt-quatre heures avant l'infection — de 0,5 c.c. du sérum de la poule III (éthyroïdée) a protégé d'une façon absolue contre l'infection avec 0,45 c.c. de virus Argas conservé 27 jours à la glacière.

Chez trois autres poussins de 167, 159 et 184 grammes, l'injection intraveineuse, préventive, de 0 c.c. 5 de sérum de la poule V (non éthyroïdée), a protégé intégralement dans deux cas contre l'infection par le même virus; dans le troisième cas, nous avons eu une septicémie très atténuée qui n'a duré que vingt-quatre heures.

Les deux autres animaux injectés avec 0,5 c.c. de sérum physiologique et 0,45 c.c. du même virus ont succombé tous deux au bout de 12 à 15 jours après guérison apparente de la spirillose et cachexie consécutive.

II. — RÔLE DE LA RATE

Le rôle de la rate dans les maladies infectieuses a fait également l'objet d'une série de recherches dont les résultats sont contradictoires. Nous ne ferons que rappeler ici les expériences de Kourloff [8] sur la résistance des lapins *dératés* à diverses

infections (charbon, rouget du porc, choléra des poules, streptocoque). L'auteur conclut que « le rôle de la rate dans la lutte de l'organisme contre les parasites qui l'envahissent n'est nullement plus important que celui de tous les autres organes. C'est leur ensemble et non un organe ou un tissu quelconque qui lutte contre les envahisseurs ».

Au contraire, Bardach [9] trouve que le chien dératé résiste beaucoup moins au charbon que le chien normal.

Sur 25 chiens splénectomisés, 19 succombent à l'infection charbonneuse.

Sur 25 chiens témoins, splénectomisés, 5 seulement succombèrent.

Dans les maladies à protozoaires on a attribué à la rate un rôle particulièrement important dans la destruction des parasites.

Bradford et Plimmer [10] trouvent que les animaux dératés inoculés avec le *Trypanosoma Brucei* meurent plus vite que les témoins.

Sauerbeck [11] a vu que chez les rats et les chiens dératés, l'infection par le *Trypanosoma Brucei* évolue plus rapidement que chez les témoins.

Pour Rodet et Vallet [12] la rate aurait des propriétés trypanolytiques remarquables.

Laveran et Thiroux [13] ont fait des expériences sur des rats et des cobayes dératés inoculés avec le *Trypanosoma* du Surra. Ils trouvent que chez les animaux splénectomisés l'évolution de la trypanosomiase n'est pas sensiblement modifiée.

Le rôle de la rate au cours des infections spirillaires a fait l'objet de quelques travaux :

Soudakewitch [14] conclut de ses expériences sur le singe infecté avec le spirille d'Obermeyer que l'extirpation de la rate entrave l'apparition de la crise ; l'animal meurt en pleine infection, alors que les témoins survivent.

Tournade [15] a pu, par la splénectomie préalable, rendre le rat gris sensible à l'infection par le spirille de Dutton, alors que normalement cet animal est tout à fait réfractaire ; mais l'infection ne se produit pas à coup sûr. L'auteur conclut en accordant à la rate contre l'infection spirillaire « un rôle protecteur certain, mais qu'elle ne détient pas exclusivement ».

Nos expériences ont porté sur des poules adultes splénectomisées; puis, quand elles étaient tout à fait remises de l'intervention (8 à 10 jours), infectées par le *Sp. gallinarum*. En même temps, on infectait des poules témoins normales ou bien ayant subi un simulacre d'opération.

La splénectomie est une opération délicate à effectuer chez la poule en raison de la situation profonde de l'organe; quand l'ablation est bien faite, l'exérèse de la rate n'entraîne aucune suite fâcheuse; ni troubles généraux, ni troubles locaux.

D'une manière générale, chez la poule dératée, l'évolution de la maladie suit son cours habituel. Aucun de nos animaux n'a succombé à la spirillose. Toutefois, chez les poules sans rate, l'allure de la septicémie est modifiée. Ainsi l'apparition des spirilles dans le sang s'observe plus tôt que chez la poule témoin. Au bout de vingt-quatre heures, quelquefois avant (18 à 20 heures), on trouve sur les lames quelques rares spirilles; chez le témoin, ceux-ci ne sont mis en évidence qu'après quarante-huit heures.

De plus, pendant la période de septicémie, l'abondance des spirilles est beaucoup plus grande chez l'animal splénectomisé. Ce phénomène est constant et très marqué. La crise, au lieu de se produire en un seul temps, comme chez les témoins, s'effectue en deux temps. D'abord une partie des spirilles s'agglutinent en gros amas; vingt-quatre heures après, les agglutinats sont disparus, mais on retrouve des spirilles libres. Ceux-ci disparaissent à leur tour, en quarante-huit heures habituellement. La septicémie dure, en définitive, plus longtemps chez l'animal sans rate que chez l'animal témoin; elle commence vingt-quatre heures plus tôt, et se termine vingt-quatre heures ou quarante-huit heures plus tard.

A cette septicémie d'une durée plus longue et d'une abondance plus considérable ne correspond pas une allure clinique aggravée. Bien au contraire, la diarrhée est aussi marquée que chez le témoin, mais les phénomènes d'intoxication: abattement, torpeur, parésie, sont beaucoup moins accusés; parfois même ils s'observent à peine. Il y a là, entre la poule dératée et son témoin, une différence frappante; nous l'avons notée chaque fois.

On peut, croyons-nous, expliquer ce fait paradoxal d'une septicémie plus forte et d'une évolution cliniquement atténuée, de la manière suivante. Habituellement, il se ferait au niveau de la rate une destruction considérable de spirilles; il y aurait donc mise en liberté, à dose massive, de substances toxiques qui réalisent le syndrome adynamique si caractéristique et si constant. Chez la poule dératée, cette destruction massive n'aurait plus lieu, d'où à la fois abondance plus grande de spirilles dans le sang et absence ou atténuation des phénomènes d'intoxication. Quand la destruction spirillaire se produit, celle-ci, plus lente, se fait au niveau d'organes (le foie en particulier) capables de retenir, vraisemblablement, la majeure partie des produits de désintégration spirillaire.

L'absence de rate n'empêche pas la production des anticorps spirillaires; l'état d'immunité s'établit comme chez la poule témoin, ainsi que nous l'avons constaté.

L'étude hématologique nous a montré, dans la spirillose de nos poules splénectomisées, les mêmes réactions sanguines que celles décrites par nous chez la poule normale spirillosée.

Tels sont les phénomènes que l'on constate au cours de la maladie et dans les jours qui suivent la crise. En prolongeant l'observation des animaux après guérison apparente, nous avons vu survenir dans un cas des phénomènes de cachexie dont l'interprétation nous a longtemps paru difficile. Il s'agissait d'une poule splénectomisée, puis spirillosée qui, un mois après la crise, se mit à maigrir rapidement. Cet amaigrissement s'accompagnait d'inappétence, de parésie, de perte des plumes, et aussi d'une leucocytose croissante qui atteignit 132,000 leucocytes. L'animal mourut au bout de quelques semaines de maladie et l'autopsie nous montra une tuberculose prédominant au niveau du foie, qui était très volumineux, criblé de tubercules où fourmillaient les bacilles. Cette infection tuberculeuse spontanée expliquait à la fois la cachexie post-spirillaire et l'état leucémique du sang.

CONCLUSIONS.

1^o L'ablation préalable des glandes thyroïdes et de la rate n'entrave pas chez la poule adulte la résistance à l'infection spirillaire ni la production de l'état d'immunité.

2^o Chez la poule éthyroïdée l'évolution de la spirillose n'est pas sensiblement modifiée.

3^o Chez la poule dératée, la septicémie spirillaire est sensiblement plus forte que chez le témoin; par contre, l'allure clinique de la maladie est beaucoup plus bénigne et les phénomènes d'intoxication très peu marqués.

Juin 1914.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- [1] L. LAUNOX et M. LÉVY-BRÜHL. — *Annates de l'Institut Pasteur*, mai 1914.
- [2] MARCHOUX et SALIMBENI. — *Annales de l'Institut Pasteur*.
- [3] FASSIN (M^{me}). — *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 20 avril 1907, p. 647.
- [4] MARBÉ. — *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 20 juin 1908, p. 1113, et 26 juin 1909, p. 1073.
- [5] FROUIN. — *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 30 juillet 1910, p. 237.
- [6] LERDA et S. DIEZ. — *R. Accad. Med. di Torino*, XI, 18 mars 1907.
- [7] FJELDSTAD. — *Amér. Journ. of Physiology*, vol. XXVI, p. 72, 1910.
- [8] KOURLOFF. — Cité par Soudakewitch.
- [9] BARDACH. — Cité par Soudakewitch.
- [10] BRADFORD et PLIMMER. — *The quarterly journal of microscop. science*, février 1902, t. XLV.
- [11] SAUERBECK. — *Zeitschrift f. Hygiene*, 1906, t. LII.
- [12] RODET et VALLET. — *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 28 mai 1906, et *Archives de médecine expérimentale*, juillet 1906.
- [13] LAVERAN et THIROUX. — *Annales de l'Institut Pasteur*, août 1907, t. XXI, p. 593.
- [14] Soudakewitch. — *Annales de l'Institut Pasteur*, t. V.
- [15] TOURNADE. — *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 1911.

SUR LA VIRULENCE DES BACILLES TUBERCULEUX

par ÉT. BURNET

(Travail du Laboratoire de M. Metchnikoff, à l'Institut Pasteur.)

Les observations qui suivent s'ajoutent à celles qui ont fait l'objet d'un premier mémoire, et se rapportent à la même question : le rôle des bacilles atténus dans la vaccination spontanée chez l'homme (1). Sous l'influence des recherches bactériologiques, les cliniciens commencent à abandonner l'ancienne notion simpliste du terrain, propice ou défavorable à la tuberculose ; ils accordent, avec raison, une vive attention aux phénomènes de réinfection, où le bacille s'implante sur un terrain déjà modifié ; et l'un des plus expérimentés en matière de tuberculose présentait, tout récemment, le « concept bactériologique » du terrain tuberculeux (2). Les bacilles atténus étant les plus aptes à modifier l'organisme en lui causant le moins de dommages, à la manière de vaccins naturels, il est important de connaître leur place dans la nature. On la connaît mal parce que les notions exactes ne peuvent être acquises qu'au prix d'observations minutieuses et longues. Ainsi, l'enquête de l'Office sanitaire allemand sur la virulence des bacilles bovins chez l'enfant, commencée depuis six ans environ, est encore loin d'être achevée.

Des bacilles atténus ont été trouvés dans l'organisme des animaux. N'en existe-t-il pas autour de nous dans le monde extérieur, et les enfants qui grandissent en acquérant une résistance certaine à la tuberculose, ne sont-ils pas ceux qui ont eu la chance de les rencontrer ? Il faut donc les chercher dans le milieu extérieur. Il faut, d'autre part, les suivre dans les organismes, pour savoir dans quelles conditions peut se maintenir ou varier leur degré de virulence.

(1) *Ces Annales*, novembre 1912, t. XXVI, p. 868.

(2) F. BEZANÇON, *Journal de médecine interne*, 10 juin 1914.

C'est le cobaye qui a servi comme sujet ordinaire d'expérience. La virulence a été appréciée d'après la dose inoculée et l'état anatomique des cobayes autopsiés en séries, après un temps déterminé. Comme, après l'inoculation sous-cutanée, c'est le poumon qui forme le dernier les masses tuberculeuses visibles, l'extension de la tuberculose au poumon semble donner la mesure la moins incertaine de la rapidité de la maladie et de la virulence du bacille.

I

LES BACILLES TUBERCULEUX DANS LE MILIEU EXTÉRIEUR

1^o BACILLES RECUEILLIS DANS LES POUSSIÈRES.

Les hygiénistes ont bien souvent cherché le bacille tuberculeux dans la poussière des rues et des habitations, surtout à l'époque où l'on discutait la notion de l'ubiquité du bacille. La bibliographie de ces recherches remplirait des pages. Mais si l'on s'est beaucoup préoccupé de leur présence, on ne s'est pas souvent soucié de déterminer leur virulence.

Le bacille de Koch a été trouvé dans les poussières et balayures des rues (anciennes recherches de Manfredi, à Naples; de Marpmann, à Leipzig) et des locaux très fréquentés (Carlo Mazza, dans les cafés de Tunis), sur des fruits exposés aux étalages (Schnirer), dans la poussière recouvrant des objets militaires d'équipement (des ouvriers tuberculeux avaient travaillé dans le magasin, — Kirchner), dans les salles d'hôpital (Strauss, Le Noir et Camus), dans des livres, sur le corps des mouches (Nuttall, André, etc.), dans la poussière des salles d'Université (Heymann), sur des vêtements (Josephson, Nötel, Chaussé), etc. Après avoir constaté la présence du bacille, on a surtout étudié les conditions de conservation. (Voy. les mémoires de Lindemann, Flügge, Cornet, Kirstein, Heymann, Jousset, Küss, Chaussé, etc. [1].)

(1) On trouvera aisément l'indication des principaux travaux dans le travail de CORNET et KOSSEL (*Handbuch der path. Mikroorganismen*, de KOLLE et v. WASSERMANN, 2^e édit., t. V) et dans les récentes études publiées par CHAUSSÉ, dans la *Revue d'Hygiène et de Police sanitaire*, t. XXXV, 1913.

On trouve comme une quintessence des poussières atmosphériques dans ces poussières fines que l'on pompe par le vide (*Vacuum cleaner*); avec elles s'est déposé ce qu'il y a de plus léger dans ce que soulèvent nos semelles et l'intense circulation de nos rues, et ce que crache une population malheureusement trop insouciante. Les nettoyages par le vide, faits à intervalles assez éloignés, fournissent des poussières vieilles et sèches. Comme terme de comparaison, il est intéressant d'examiner des poussières relativement fraîches, ramassées en des endroits de grande circulation et que l'on balaie et nettoie tous les jours : planchers d'omnibus, de voitures, de wagons de métropolitain et autres trains, encoignures de portes, au bord des trottoirs.

Si l'on inocule directement les cobayes sous la peau avec ces poussières telles quelles, on risque de perdre la plupart des animaux avant qu'un ganglion ait eu le temps de se tuméfier.

L'antiformine permet d'inoculer des quantités beaucoup plus grandes avec des risques à peu près nuls. J'ai employé couramment l'antiformine à 10 pour 100 pendant 20-35 minutes, suivie de deux lavages-centrifugations à l'eau stérile. Ce traitement ne laisse guère survivre que les spores du *B. sporogenes* et de divers *Mesentericus*. Avec chaque échantillon ont été inoculés de 3 à 6 cobayes, qui ont été observés aussi longtemps que possible. Les résultats auraient évidemment une plus grande valeur si l'on inoculait des cobayes par centaines.

Sur 18 échantillons de poussières sèches de nettoyage par le vide, aucun n'a tuberculisé les cobayes.

Sur 18 échantillons de poussières fraîches, 3 ont donné la tuberculose, à savoir : 1^o de la poussière prélevée sur les barreaux supérieurs d'une fenêtre d'un laboratoire, à 3 mètres environ au-dessus du sol; 2^o et 3^o de la poussière, mélangée de terre, prélevée entre les lattes du plancher de deux autobus différents.

Il est à remarquer que les poussières d'autobus m'ont donné un résultat positif dans 2 cas sur 7, ce qui n'est pas à traiter par le dédain; tandis que des échantillons prélevés très superficiellement au jardin du Luxembourg (allée où les enfants

jouent tous les jours par centaines), sur le plancher de plusieurs voitures du métropolitain, dans des encoignures de portes de maisons donnant sur un trottoir, n'ont rien donné.

Les prélevements ont été faits au printemps de 1913 (voy. Note 1 ci-dessus).

NOTE 1. — INOCULATIONS DE POUSSIÈRES

| PROVENANCE | NOMBRE de cobayes | DURÉE D'OBSERVATION | RÉSULTAT (tuberculose) |
|---|-------------------------|---|---------------------------|
| 1^o Poussières sèches. | | | |
| <i>(Seuls figurent les cobayes qui ont vécu longtemps.)</i> | | | |
| 1. Maison de tailleur W. E. | 0 | 6 semaines, 4 mois, 7 semaines, 5 mois, 5 mois. | — |
| 2. Théâtre Montm... | 3 | 3 pendant 6 mois. | — |
| 3. Théâtre Monc... | 4 | 6 et 7 mois. 5 semaines. | — |
| 4. Théâtre B.-Par... | 2 | 5 mois. 1 mois. | — |
| 5. Théâtre Mic... | 2 | 6 mois. | — |
| 6. Théâtre App... | 3 | 56, 77 et 432 jours. | — |
| 7. Théâtre Ré... | 3 | 66, 80 et 118 jours. | — |
| 8. Cinéma Pig... | 2 | 5 et 8 mois. | — |
| 9. Appartement. | 3 | 2, 5 et 8 mois. | — |
| 10. Malmaison. | 2 | 2 et 6 mois. | — |
| 11. Appartement. | 3 | 4, 4 mois et demi et 5 mois. | — |
| 12. Façade d'un hôtel (M. X.) | 2 | 2 mois. | — |
| 13. Grand magasin H... | 2 | 2 mois. | — |
| 14. Grand magasin F... | 2 | 45 et 60 jours. | — |
| 15. Magasin rue P... | 4 | 2, 5, 5 et 6 mois. | — |
| 16. Salle des mariages, Mairie X... | 2 | 2 mois. | — |
| 17. Appartement. | 4 | de 6 semaines à 3 mois. | — |
| 18. Appartement. | 4 | 2 mois et demi. | — |

| PROVENANCE | NOMBRE de cobayes | DURÉE D'OBSEERVATION | RÉSULTAT (tuberculosc.) |
|---|-------------------------|--|----------------------------|
| 2^e Poussières fraîches. | | | |
| 1. Jardin du Lux... | 2 | 2 mois. | — |
| 2. Id. | 2 | 5 mois. | — |
| 3. Laborat. Poussière non lavée à l'antifor. | 2 | L'un 6 mois, négatif ; l'autre +. | + |
| 4. Autobus. | 2 | L'un, tuberculeux ; l'autre 2 mois et demi. | + |
| 5. Métro. | 2 | 4 mois et demi et 6 m. et demi. | — |
| 6. Id. | 2 | 4 mois et demi. | — |
| 7. Id. | 2 | 4 et 8 mois. | — |
| 8. Id. | 2 | 3 et 4 mois. | — |
| 9. Autobus. | 2 | 1 mois et 4 mois et demi. | — |
| 10. Id. | 2 | 4 mois et demi. | — |
| 11. Autobus. | 2 | 5 et 8 semaines. | — |
| 12. Id. | 3 | 38, 44 et 50 jours. | — |
| 13. Autobus, antiformine, 40 min. | 3 | 3 tuberculeux. | + |
| 14. Id. | 4 | 42, 70 jours, et 5 mois. | — |
| 15. Id. | 4 | 10 à 14 semaines. | — |
| 16. Id. | 4 | 6 à 14 semaines. | — |
| 17. Encoignure du trottoir P... | 3 | 3 mois et demi. | — |
| 18. Enc. du trottoir V... | 2 | 38 et 105 jours. | — |

Les 3 bacilles désignés se sont montrés d'une virulence au moins égale à ceux que l'on isole des crachats de tuberculoses en activité. Il n'est pas douteux que les bacilles des autobus proviennent de crachats fraîchement projetés sur le plancher, comme c'est trop souvent le cas à Paris. En somme, ces examens n'ont pas découvert de bacilles atténués. S'il en existe autour de nous, ils sont difficiles à trouver. Pour savoir comment les bacilles échappés d'un organisme sont impressionnés par les influences en jeu dans le monde extérieur, — oxygène, lumière, dessiccation, vieillissement, — il faut recourir à l'expérience.

2^o BACILLES EXPOSÉS AU VIEILLISSEMENT
SOUS LA LUMIÈRE DIFFUSE.

L'expérience est très simple et reproduit les conditions naturelles où se trouvent des poussières exposées à la lumière diffuse, dans un coin d'appartement. Quoique étalée aussi mince que possible, sur le fond d'une boîte de Petri, la couche de poussière gardait toujours une certaine épaisseur : on l'agaitait périodiquement pour faire passer tous les bacilles, autant que possible, au contact de l'air et de la lumière. L'expérience a duré jusqu'ici dix mois.

A 2 grammes de fine poussière (de nettoyage par le vide) stérilisée, on mèle 100 milligrammes de bacilles tuberculeux, mis en suspension dans l'eau physiologique; le tout est divisé en deux parties égales, mises chacune dans une boîte de Petri et desséchées, l'une à l'étuve, l'autre sous la cloche à vide. A partir de ce moment, l'une des boîtes a toujours été tenue sous la cloche à vide, au-dessus de l'acide sulfurique; l'autre à l'air du laboratoire. Les deux lots étaient toujours placés au même endroit de la même table, avec la même exposition; le soleil n'a donné sur eux qu'à de très rares exceptions; c'est la lumière diffuse qui a agi, à travers la paroi de la cloche.

Au début, croyant à une atténuation ou même à une destruction rapide des bacilles, on inoculait au cobaye de sept en sept jours. Comme la résistance a été longue, les inoculations ont, dans la suite, été faites de mois en mois. Pour chaque cobaye était mise en suspension une quantité de poussière correspondant au quart ou au huitième de milligramme de bacilles : dose très forte. Les irrégularités, inévitables, se compensent, parce que l'expérience a été prolongée longtemps avec des cobayes nombreux. Inoculations sous la peau du ventre.

Vitalité et virulence ont baissé très lentement. A peine a-t-on noté, pendant les trois premiers mois, un retard dans le développement des ganglions inguinaux et dans l'extension des lésions : les bacilles exposés à l'air retardent sur les bacilles maintenus dans le vide, et les bacilles maintenus dans le vide retardent sur les bacilles de la culture. A la neuvième inoculation (trois mois et demi), la baisse de virulence s'accuse, la tuberculose évolue lentement; chez bon nombre de cobayes on note un phénomène qui deviendra de plus en plus fréquent et à peu près général, *l'absence de chancre*, laquelle, avec les bacilles normaux, ne s'observe (et pas toujours) que si la dose est minime, inférieure au millième de milligramme. A la même

date, les bacilles conservés dans le vide sont plus virulents que les bacilles exposés à l'air : la différence est très nette.

Après quatre mois et demi, les cobayes inoculés avec les bacilles gardés à l'air n'ont, au bout de huit semaines, que de petits ganglions inguinaux, sans lésions viscérales. Dans la onzième série (cinq mois), par suite d'un hasard dans la distribution des bacilles, l'inoculation accuse une plus grande virulence que dans la précédente. Dans la douzième série, les cobayes n'ont, après deux mois et demi, qu'un ganglion minuscule, dans le cas des bacilles à l'air; mais les bacilles maintenus dans le vide, quoique moins actifs que les bacilles normaux, donnent à ce moment une tuberculose nette.

A quoi tient la diminution d'activité des bacilles exposés à l'air et à la lumière diffuse? Ou bien tous subissent un affaiblissement uniforme; ou bien il se fait une sélection, d'après la vigueur individuelle des bacilles et la façon dont la lumière les a touchés. L'expérience suivante, sans être absolument concluante (puisque l'organisme du cobaye peut modifier les bacilles), est en faveur de la seconde interprétation: au moment où la virulence commence à baisser (quatrième mois), on isole le bacille des ganglions des cobayes et, avec la culture obtenue, on inocule une série : la tuberculose évolue comme avec les bacilles normaux originels.

En résumé : 1^o chez la majorité des cobayes inoculés, les bacilles affaiblis ne produisent pas de chancre; 2^o les bacilles maintenus dans le vide conservent beaucoup mieux leur virulence que les bacilles maintenus dans l'air; 3^o les bacilles tuberculeux, mêlés à de la fine poussière, exposés à la lumière diffuse et agités fréquemment, conservent longtemps leur virulence; la conservation s'évalue non en jours, mais en mois.

Ces dernières conclusions paraissent contraires à l'opinion courante, fondée sur de nombreuses expériences. Il est admis que les bacilles secs se conservent plus longtemps que les bacilles humides; or les bacilles exposés à l'air, bien qu'ayant subi une première dessiccation, étaient plus exposés à la vapeur d'eau de l'atmosphère que les bacilles de la cloche à vide, et ils ont perdu plus vite leur virulence. Sans doute il faut tenir compte d'un autre élément : l'oxygène de l'air.

La longue survie des bacilles tient à ce que la poussière

fine leur fournissait un bon abri. Dans les appartements, surtout dans les taudis privés de soleil et même de lumière diffuse, les bacilles doivent se conserver très longtemps vivants et virulents. Ce qui stérilise, c'est la grande lumière du jour et, surtout, l'insolation directe. La réforme de l'habitation est bien un point essentiel de la lutte contre la tuberculose.

Les recherches sur la présence et la durée de conservation des bacilles dans le milieu extérieur sont extrêmement nombreuses; elles se rattachent aux anciennes expériences de Koch : « Les bacilles tuberculeux, suivant l'épaisseur de la couche exposée au soleil, sont détruits au bout de quelques minutes ou de quelques heures;... la lumière diffuse peut aussi, quoique plus lentement, exercer la même action, car les bacilles meurent en cinq à sept jours, quand on les expose immédiatement à la fenêtre (1). » Les expérimentateurs donnent des chiffres très divers, et tous doivent avoir raison : le résultat dépend des conditions d'expérience, de la façon dont les bacilles sont exposés, prélevés dans une culture ou laissés dans des crachats, protégés ou nus.

J'ai répété l'expérience classique des bacilles mis en suspension dans l'eau et étalés en couche très mince sur une lame de verre, rapidement séchés à l'étuve et exposés à la lumière diffuse : après six jours et à la dose de 0,1 milligramme, ils n'ont rien donné au cobaye. (Même bacille que dans l'expérience sur les poussières.)

L'atténuation des bacilles exposés à la lumière du soleil a été observée par Magneco (2); l'insolation, selon lui, ne modifie pas la virulence, quand elle ne dure pas plus de deux heures; à partir de trois heures, l'atténuation augmente progressivement avec la durée de l'exposition. Chaussé (3), sur des bacilles desséchés dans les conditions de l'appartement, a mis l'atténuation en évidence, d'une façon ingénieuse, en comparant les effets des mêmes bacilles, administrés par inoculation sous-cutanée et par inhalation. Le même virus, actif par inoculation après dix, vingt, trente jours d'exposition à la lumière diffuse, s'est montré inoffensif par inhalation (chez le cobaye), à partir

(1) *Congrès de médecine interne*. Berlin, 1890.

(2) *Ann. d'Ig. sperim.*, 1895, t. V, p. 245.

(3) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CLV, p. 486, 26 août 1912.

du dixième jour au plus et à dose plus considérable. À partir du moment de l'innocuité par inhalation, le bacille donne par inoculation des tuberculoses de plus en plus atténuées, jusqu'à la perte complète de la virulence.

D'après tous ces faits, il n'est pas douteux qu'il y ait dans le milieu extérieur des bacilles atténués, et que l'enfant en rencontre à l'âge où il commence à marcher, en touchant à tous les objets ; il n'est pas douteux que l'infection première varie, non seulement en quantité, mais en qualité. Ce sont là les éléments de la vaccination spontanée de l'homme.

II

LES BACILLES TUBERCULEUX DANS L'ORGANISME

1^o BACILLES ATTÉNUÉS DANS LES TUBERCULOSSES CUTANÉES.

Sur les 14 bacilles, isolés de tuberculoses cutanées (parmi lesquelles ne figurent pas les lésions de peau produites par une lésion osseuse ou ganglionnaire sous-jacente), que j'ai éprouvés sur cobaye, 4 ont paru nettement atténués. Sur 4 lupus, 2 ont donné des bacilles atténués.

BACILLES NON ATTÉNUÉS :

1. Gomme du bras.
2. Lupus d'adulte.
3. Lupus d'adulte.
4. Gomme de la joue, fillette de deux ans et demi.
5. Gomme du mollet (fillette de sept ans).
6. Tuberculose cutanée de la jambe (garçon de treize ans et demi).
7. Lésion cutanée du genou (garçon de dix ans).
8. Ulcère atypique de la peau (femme de dix-sept ans).
9. Ulcération tuberculeuse de la cuisse (femme de vingt ans).
10. Tubercul. verruqueuse (adulte).

BACILLES ATTÉNUÉS :

1. Tuberculose cutanée de la jambe chez un homme de dix-neuf ans (Z).
2. Lupus (adulte).
3. Lupus de la joue chez une femme de vingt ans.
4. Lésion cutanée de la tempe chez un homme de vingt-sept ans (tuberculeux depuis l'âge de huit ans).

Ces 4 bacilles sont du type humain.

. Les bacilles atténués se rencontrent surtout dans les lésions tuberculeuses de la peau. C'est aussi la conviction de Stanley

Griffith, qui a fait une étude très complète des bacilles isolés des lupus (1). Dans aucune autre forme de la tuberculose chez l'homme, dit-il, on ne trouve une telle diversité de virulences et une aussi grande fréquence de bacilles atténués, tant du type bovin que du type humain. Des vingt-cinq cas de lupus qui font le sujet de son plus récent mémoire, Stanley Griffith a cultivé 25 bacilles, dont 12 bovins et 13 humains ; sur les 12 bovins, 9 atténués, et 10 sur les 13 humains (plusieurs degrés d'atténuation).

Les bacilles sont-ils atténués par le fait de leur séjour dans la peau, ou l'étaient-ils avant d'y pénétrer ? Stanley-Griffith a cherché à déterminer l'ancienneté de ses cas, afin de mettre en parallèle le degré d'atténuation et la durée du séjour dans la peau. Pas de rapport entre l'ancienneté et l'atténuation pour les bacilles du type bovin ; pour les bacilles du type humain, une certaine correspondance : 3 bacilles de virulence normale provenaient de cas récents et les 3 bacilles les plus atténués provenaient des cas les plus anciens ; mais il y a des exceptions, l'un des bacilles atténués provenant d'un lupus de six mois. L'auteur annonce des observations plus étendues sur le même sujet. Rappelons l'opinion de Lindemann (2), d'après laquelle la peau de l'homme atténuerait les bacilles bovins et non les bacilles humains.

Il ne manque pas d'observations qui montrent qu'un bacille peut séjourner des années dans l'organisme sans perdre sa virulence. Sur l'action qui peut appartenir en propre à la peau, on n'a pas de renseignements exacts. On ne peut pas négliger le terrain, c'est-à-dire l'organisme que des infections antérieures doivent avoir modifié. L'atténuation serait un effet d'« allergie ».

2^e LA TUBERCULINE DES BACILLES ATTÉNUÉS

La production de tuberculine est un caractère essentiel du bacille tuberculeux. Un bacille acido-résistant qui n'en produit pas n'est pas classé comme tuberculeux. On sait que le bacille

(1) *Journal of Pathology and Bacteriology*, t. XVIII, f. 4, p. 591.

(2) *Berliner klin. Woch.*, 17 juin 1912, p. 1183.

aviaire produit une tuberculine qui agit faiblement sur les cobayes tuberculeux. D'après les observations suivantes, les bacilles atténués donnent une tuberculine normale.

On prépare dans des conditions identiques (milieu, vase, étuve, temps) de la tuberculine brute avec le bacille atténué Z et avec un bacille bovin, connu comme excellent producteur d'une tuberculine active. L'essai est fait aux mêmes doses, sur des cobayes appareillés aussi exactement que possible (bacille tuberculeux, mode et date d'inoculation, résistance, poids). La tuberculine du bacille atténué a causé une réaction thermique en général plus faible; mais elle a tué les cobayes à peu près dans la même proportion que l'autre tuberculine (Voy. Note 2).

J'ai répété la comparaison, en faisant la cutiréaction sur moi-même, avec plusieurs tuberculines (liquide du milieu minéral de Sauton, chauffé trois quarts d'heure à 100 degrés, après six semaines de culture). Les inoculations ont été faites sur le même bras avec la tuberculine du même bacille bovin et des bacilles atténués 1, 3 et 4. Des réactions antérieures avaient prouvé la sensibilité. Les tuberculines de bacilles atténués n'ont pas été moins actives que l'autre; au contraire, la réaction (étendue et épaisseur de l'œdème) était plus marquée avec deux des bacilles atténués; la différence correspondait à une plus grande luxuriance de la culture de ces deux bacilles.

Mêmes résultats en faisant ces cutiréactions sur un même cobaye tuberculeux à peau fine et blanche.

3^e PASSAGE D'UN BACILLE ATTÉNUÉ SUR COBAYES ET SUR SINGES.

Par passage sur cobayes avec alternances de cultures, le bacille atténué Z est resté peu pathogène, et a plutôt continué à baisser. Un séjour de soixante-douze jours chez un lapin ne l'a pas modifié pour le cobaye. Les passages sur singes ont relevé la virulence pour le cobaye.

1. Premier séjour de neuf mois chez un *Rhesus*; la culture, à partir de ce rhesus, s'est montrée plus virulente pour les cobayes. Puis le bacille est redescendu à sa faible virulence pour cobaye.

2. *Cynocéphale* 243 reçoit du 7 avril au 20 octobre 1913, par ingestion, en 25 fois, par doses variant de 0,1 à 1 milligramme, en tout 9 milligrammes de culture pure du même bacille Z. Il meurt le 4 novembre avec une grosse tuberculose des ganglions mésentériques et trachéo-bronchiques, et une tuberculose discrète, abondante, des poumons.

| COBAYE | DOSE de tuberculine brute | TEMPÉRATURE | | | | RÉSULTATS ET AUTOPSIE |
|--------|------------------------------------|-------------|----------------------|----------------------|----------------------|--|
| | | avant | après 3 heures | après 5 heures | après 6 heures | |
| | | | | | | |
| 1 | 0,5 c.c. | 38,9 | 39,1 | 39,2 | 38,7 | Survit. Très peu de tuberculose, sauf un ganglion inguinal. |
| 2 | 0,25 | 39,3 | 40 » | mort | » | Plus maigre que le cobaye ci-contre. |
| 3 | 0,25 | 39,4 | 40,2 | 38,2 | 36,4 | Mort dans la nuit. |
| 4 | 0,25 | 39 » | 40,2 | 40,4 | | Tuberculose, rate et ganglions. |
| 5 | 1/8 | 38,2 | 39 » | 38,3 | Ont survécu | |
| 6 | 1/8 | 39,3 | 41 » | 40,4 | | Pas de tuberculose viscérale. |
| 7 | 0,4 | 39,7 | 41,3 | 40,4 | » | Mort dans la nuit. Gros ganglions trachéobronchiques. Grosse rate très tuberculeuse. Tuberculose discrète des poumons. |

Les animaux mis en face l'un de l'autre, avec les mêmes doses

Avec la matière caséuse d'un de ses ganglions mésentériques, sont inoculés des cobayes qui ont, au bout de quarante jours : tuberculose pulmonaire abondante; grande ulcération purulente au point d'inoculation.

Du même ganglion du cynocéphale a été obtenue une culture pure. La première culture est inoculée sous la peau de cobayes, à la dose de 1/4 de milligramme. Au bout de quarante jours, tuberculose pulmonaire assez étendue, surtout chez l'un des cobayes, qui a au moins 200 tubercules dans ses poumons : ce que n'avait jamais donné le bacille primitif.

La seconde culture est inoculée à la même dose et donne en quarante jours de la tuberculose pulmonaire; une particularité qui n'a été vue que dans cette série : les cobayes avaient tous sur leur chancre une croûte grosse; grise, sèche, éailleuse, surélevée en cône de 6 à 7 millimètres, semblable à une culture de leigne.

Cette même culture a été donnée par ingestion, à haute dose (6 milligrammes en deux fois, à 2 jours d'intervalle) au Rhesus 272, qui est mort le cinquantième jour, avec de petits ganglions mésentériques caséux, de petits ganglions trachéo-bronchiques caséux et un gros bloc de pneumonie tuberculeuse dans le poumon droit, contenant une multitude innombrable de bacilles. Un petit morceau de cette pneumonie est broyé dans de l'eau physiologique, et la suspension (liquide surnageant) inoculée à des cobayes à la dose de 1/3 de centimètre cube. (Une goutte sur lame montrait une trentaine de bacilles par champ de microscope.) Après quarante-cinq jours, les

ERCULINES, SUR COBAYES.

Tuberculine du bacille bovin.

| DOSE de berculeine brute | TEMPÉRATURE | | | | RÉSULTATS ET AUTOPSIE |
|-----------------------------------|-------------|----------------------|----------------------|----------------------|--|
| | avant | après 3 heures | après 5 heures | après 6 heures | |
| 0,5 c.c. | 39 » | 40,5 | 40,2 | 39,2 | Mort le lendemain. Tuberculose discrète poumon et rate. A survécu. |
| 0,25 | 38,9 | 40 » | 40,5 | 39,9 | |
| 0,25 | 39,2 | 40,8 | » | » | A survécu. Lésions cependant un peu plus étendues que chez le cobaye ci-contre. Peu de tuberculose viscérale. |
| 0,25 | 39,4 | 40,5 | 40,3 | | |
| 1/8 | 38,2 | 39,8 | 40,3 | | Ont survécu Tuberculose plus étendue que chez le témoin. |
| 1/8 | 39 » | 39,8 | 40,4 | | » |

exactement le même âge de la même tuberculose.

cobayes ont eu de la tuberculose pulmonaire, sans parler des ganglions casseux et de la rate très tuberculeuse (1).

D'après les expériences de Stanley Griffith, lorsqu'on éprouve comparativement la virulence d'un bacille sur les espèces lapin, veau, chèvre, cobaye et singe, les résultats sont concordants; en tenant compte de la sensibilité des espèces, un bacille atténué pour l'une l'est aussi pour l'autre.

Le bacille Z est relativement atténué pour les cynocéphales et les rhesus, comme il l'est pour les cobayes, mais les singes sont toujours beaucoup plus sensibles. Ils ne font pas de cutréactions, ce qui est un signe de moindre résistance. Les passages équivalent à des passages par espèce plus sensible, rele-

(1) Une tuberculose spontanée, à bacille pleinement virulent, est-elle intervenue dans cette expérience? On ne peut l'exclure d'une façon absolue; mais elle est très invraisemblable chez des cynocéphales soigneusement isolés.

vant le bacille pour une autre espèce moins sensible, ce qui est conforme aux idées pastorriennes sur la virulence des bactéries.

En médecine, on n'a guère à envisager que les passages sur l'homme. Nous n'avons pas de données sur ce que peut être un bacille humain repris par l'homme après un détour sur une espèce animale, par exemple le chien ou le chat.

4^o ACTION DES RAYONS X.

Que deviennent les bacilles tuberculeux qui sont soumis, *dans l'organisme*, à l'action de ces rayons, aujourd'hui si souvent employés? Une expérience, faite avec le Dr Mahar, sur cobayes inoculés dans l'épaisseur de la peau et exposés aux rayons, n'a pas abouti à une atténuation.

Un cobaye reçoit par inoculation intradermique 1/200 milligramme de bacilles bovins. Le surlendemain, première irradiation; après intervalle de 7 jours, deuxième irradiation (peau à 15 centimètres de l'anticathode; 10 minutes; appareil employé pour le traitement des tuberculoses cutanées et ganglionnaires). Une petite papule s'est développée, à partir du 8^e jour, chez le cobaye irradié comme chez les témoins; elle est plus rouge, d'aspect plus enflammé chez le cobaye irradié.

On l'excise le 16^e jour et on la réinocule sous la peau de cobayes neufs qui prennent une tuberculose ni plus ni moins rapide que les cobayes inoculés de la même manière avec la papule analogue d'un cobaye non irradié.

Un autre cobaye, inoculé de même dans la peau, est soumis à 4 irradiations, à intervalles de 7 jours. Le 4^o jour, on excise la papule: la plaie ainsi faite d'un coup de ciseaux guérit *parfaitement*, tandis que le cobaye succombe à la tuberculose généralisée. De la papule on inocule séparément, à des cobayes neufs, la croûte sèche et la base dermique. Le tissu dermique donne une tuberculose rapide (généralisée dès le 45^e jour); dans le même temps, la croûte a donné une tuberculose plus lente. A cause de l'incertitude sur les quantités de bacilles, on ne peut conclure à une atténuation des bacilles renfermés dans la croûte.

Il est facile de prélever les bacilles sur un sujet humain avant le traitement par les rayons, mais difficile d'en prélever après, lorsque les rayons ont amené la guérison superficielle.

Une fille de quatorze ans, de très bonne santé générale, est traitée pour une adénite sous-maxillaire propagée à la peau. Deux prélèvements tout à fait superficiels ont été faits, l'un avant, l'autre après deux irradiations (huit jours après la

deuxième), et on a obtenu sur cobayes les deux cultures correspondantes. Elles ont accusé la même virulence.

Une culture de virulence normale a été obtenue avec des croûtes d'une lésion tuberculeuse de la malléole externe d'une jambe, chez une fille de sept ans et demi, après application de courants à haute fréquence et 3 irradiations. Le bacille obtenu n'était pas atténué, mais il n'a pu être comparé avec le bacille primitif.

Ces observations, faites en commun avec le Dr. Mahar, ne suffisent pas à déterminer le mode d'action des rayons; elles indiquent que les bacilles n'ont pas été dans les tissus l'objet d'une destruction rapide.

CONCLUSIONS

1. Dans le milieu extérieur, le bacille tuberculeux n'a pu être isolé de 18 échantillons de poussières sèches (nettoyage par le vide). Il a été isolé de 3 échantillons (sur 18) de poussières fraîches; 2 de ces bacilles proviennent de poussières terreuses ramassées sur des planchers d'omnibus, et sans doute fraîchement souillées de crachats.

Ces 3 bacilles ont été reconnus très virulents.

2. Des bacilles tuberculeux pris dans une culture, mêlés à de la poussière fine (stérilisée) placée en couche mince dans une boîte en verre, exposés au vieillissement à la lumière diffuse, dans des conditions parcellaires aux conditions naturelles (appartements), n'ont perdu de leur virulence qu'au bout de huit mois.

3. Au début du déclin de la virulence, on a isolé de la tuberculose lente des cobayes inoculés un bacille pleinement virulent.

4. Il se fait des bacilles atténués dans le monde extérieur, bien qu'on n'en ait pas encore isolé.

5. Dans l'organisme les bacilles atténués se trouvent surtout dans les tuberculoses cutanées, en particulier dans les lupus.

6. Il y a un élément inconnu dans la provenance des bacilles de ces lésions: l'état de l'organisme, que des infections antérieures ont modifié.

7. La tuberculine de plusieurs bacilles atténués s'est mon-

trée aussi active que la tuberculine active d'un bacille bovin très virulent.

8. Un bacille atténué ne se renforce pas pour le cobaye par passages sur cobayes. Les passages sur singes ont relevé la virulence pour le cobaye.

9. Des bacilles inoculés dans la peau du cobaye, et soumis aux rayons X, n'ont pas subi d'atténuation pendant la courte durée de l'expérience. Des bacilles cultivés à partir de lésions cutanées superficielles ont montré la même virulence avant et après les irradiations.

7 Juillet 1914.

ÉTUDES SUR LA RICINE

V. — SUR LE SORT DE LA RICINE

(TOXINE ET AGGLUTININE)

PENDANT LA GERMINATION DES GRAINES DE RICIN

par H. AGULHON.

On ne sait rien, pour ainsi dire, sur le sort de la ricine pendant la germination des graines de ricin. D'après G. Cruz (1), la germination ne détruit pas la toxine : la macération de 6 jeunes tiges de 7 jours tue le cobaye en 5 jours (injection sous-cutanée). Or, à notre connaissance, on n'a pas signalé l'existence de la ricine dans le ricin adulte. Au bout de 7 jours, la germination n'est qu'à son début, l'albumen est encore gonflé de réserves; rien ne prouve que la toxine ne disparaît pas à un stade plus avancé.

La ricine (toxine et agglutinine) est-elle détruite pendant la germination? A quelle époque disparaît-elle? Passe-t-elle de l'albumen dans la plantule? Autant de questions qui restaient sans réponse et dont nous avons entrepris systématiquement l'étude.

Nos expériences se classent en deux séries :

Dans la première, nous avons étudié les propriétés toxiques et agglutinantes des précipités alcooliques obtenus à partir : d'abord, de plantes entières; puis, séparément, des albumens et des plantules.

1^o ÉTUDE DES PRÉCIPITÉS ALCOOLIQUES

I. — PLANTES ENTIÈRES.

Les graines sont mises à germer sur de la sciure de bois humide, d'abord à l'étuve à 35 degrés pendant 3 jours, puis à

(1) *Annales d'Hygiène publique*, 3^e série, t. XL, p. 350, 1898.

la température de la chambre (expériences faites en été). Après des temps variés, 9, 14 et 30 jours, on récolte 20 jeunes plantes (albumen compris); on les broie au mortier et on les fait macérer pendant 18 heures dans une quantité d'eau suffisante pour amener le volume total à 200 cent. cubes; on filtre, on précipite, par 3 volumes d'alcool à 96 degrés, un égal volume du filtrat de chaque essai (170 cent. cubes) et on centrifuge. Le précipité est repris par l'eau; on centrifuge pour séparer la portion insoluble et la solution est précipitée par l'alcool (3 volumes); on centrifuge à nouveau et le précipité est séché dans le vide. Pour la seconde précipitation, on est obligé d'ajouter au liquide un peu de chlorure de sodium; sans cette précaution, la précipitation est très lente et souvent incomplète.

Les précipités secs obtenus pèsent :

| | |
|---|-----------|
| Pour 20 graines non germées, décortiquées | 0,480 gr. |
| Pour 20 plantes de 9 jours | 0,400 gr. |
| Pour 20 plantes de 14 jours | 0,070 gr. |
| Pour 20 plantes de 30 jours | 0,090 gr. |

Ces différentes préparations sont mises en solution dans l'eau physiologique, à raison de 0 gr. 01 par centimètre cube. On titrera, d'une part, la toxicité de ces solutions; d'autre part, leur pouvoir agglutinant.

Comme animaux d'expérience, nous employons le cobaye mâle de 400 à 500 grammes et la souris de 20 grammes; des dilutions successives dans l'eau physiologique nous permettent d'injecter, sous le volume de 1 cent. cube, des doses de plus en plus faibles de toxine. Les animaux sont observés pendant une semaine; on note la lésion locale, pour ceux qui vivent encore après ce temps.

Pour l'étude de l'agglutinine, nous nous servons d'hématies de lapin lavées, en suspension à 5 p. 100 dans l'eau physiologique. A 1 cent. cube de cette suspension d'hématies, nous ajoutons 1 cent. cube des dilutions successives des préparations; on note le résultat après 24 heures à température ordinaire. (Ces méthodes expérimentales seront celles suivies dans tout le cours de ce travail.)

Les résultats obtenus dans cette première série d'essais sont exprimés dans les tableaux suivants :

TABLEAU A. — Toxicité.

| POIDS DE PRÉCIPITÉ injecté. | GRAINES (1) | PLANTES de 9 jours. | PLANTES de 14 jours. | PLANTES de 30 jours. |
|-----------------------------|------------------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| 10mgr | Cobaye. | Mort en moins de 1 jour. | Mort en 1 jour. | Très petite eschare. |
| | Souris. | | | Petite eschare. |
| 1mgr | Cobaye. Mort en 1 j. à 1 jour 1/2. | Mort en 1 jour. | Mort en 3 j. 1/2. | Rien. |
| | Souris. | | | Très petite eschare. |
| 0,1mgr | Cobaye. Mort en 2 j. à 2 j. 1/2. | Mort en 2 jours. | Eschare. | Rien. |
| | Souris. Mort en 1 j. | | | Rien. |
| 0,01mgr | Cobaye. Eschare. | Eschare. | Très petite eschare. | |
| | Souris. Mort en 2 j. à 3 j. | | | |

(1) Deux expériences.

TABLEAU B. — Agglutination.

| POIDS de précipité. | GRAINES | PLANTES de 9 jours. | PLANTES de 14 jours. | PLANTES de 30 jours. |
|---------------------|-------------|---------------------|----------------------|----------------------|
| 10mgr " | Totale. | Totale. | Totale. | Incomplète. |
| 1mgr " | Totale. | Totale. | 0 | 0 |
| 0,1mgr | Totale. | Incomplète. | 0 | 0 |
| 0,01mgr | Incomplète. | 0 | 0 | 0 |

L'examen des tableaux A et B montre que la ricine (toxine et agglutinine) disparaît progressivement pendant la germination. Au 9^e jour, la toxine n'a pas sensiblement diminué, mais l'agglutinine est déjà moins active. Après 14 jours, la toxicité et le pouvoir agglutinant des précipités alcooliques se trouvent très abaissés. Le 30^e jour, il n'y a pratiquement plus de ricine dans la plante. A cette époque l'albumen est desséché et tombe.

Si nous tenons compte, d'une part, du poids de substance

obtenu dans nos diverses préparations; d'autre part, de leur activité, en prenant comme unité toxique la dose qui tue le cobaye en 2 à 3 jours, et comme unité agglutinante la plus petite dose agglutinant totalement 1 cent. cube d'hématies de lapin en 24 heures, on peut résumer de la façon suivante les résultats obtenus :

Les 20 graines ou jeunes plantes traitées dans chaque opération renfermaient :

| | | | | |
|----------------------|-------------------|------------------|-------------------|-----------------------|
| Graines non germées. | 1.800 | unités toxiques. | 1.800 | unités agglutinantes. |
| Plantes de 9 jours. | 4.000 | — | 400 | — |
| Plantes de 14 jours. | 70 | — | 7 | — |
| Plantes de 30 jours. | moins de 1 unité. | | moins de 1 unité. | |

La disparition de l'activité apparaît de la sorte très nettement; on constate que *l'agglutinine disparaît proportionnellement plus vite que la toxine*; Müller (1), traitant des préparations de ricine par la pepsine chlorhydrique, a vu disparaître l'agglutinine alors que la toxine subsistait; la disparition plus rapide de l'agglutinine dans le phénomène de la germination peut être rapprochée du fait observé par Müller.

II. — PRÉPARATIONS SÉPARÉES DES PLANTULES ET DES ALBUMENS.

Dans la série d'essais que nous venons d'exposer, les jeunes plantes étaient traitées en entier, plantule non séparée de l'albumen; la disparition de la ricine coïncidait avec le flétrissement de l'albumen. Il y avait lieu de rechercher si la ricine restait localisée dans l'albumen ou si elle passait dans la plantule pendant la digestion des réserves. La question est résolue par les expériences suivantes :

Des graines sont mises à germer dans la sciure à 30 degrés; après 9 et 16 jours, on sépare les albumens des plantules; on les broie et on les traite à part, comme dans les essais sur les plantes entières.

Les précipités alcooliques obtenus sont mis en solution dans l'eau physiologique à raison de 1 centigramme par centimètre cube, et on titre leur toxicité et leur pouvoir agglutinant.

(1) *Arch. f. experim. Pathol. und Pharmak.*, 1898, t. LI, p. 439.

| POIDS de précipité s'occ employé. | PLANTES LE 9 JOURS | | | | PLANTES DE 46 JOURS | | | |
|--|--------------------|----------|-----------|----------|---------------------|-------|----------------|-------|
| | ALBUMENS | | PLANTULES | | ALBUMENS | | PLANTULES | |
| | Cobaye. | Aggl. | Cobaye. | Aggl. | Souris. | Aggl. | Souris. | Aggl. |
| | | | | | | | | |
| 10 ^{mgr} | Mort en 1 jour | To-tale | Eschare | In-comp. | » | Trace | Petite eschare | Trace |
| 1 ^{mgr} | Mort en 1 j. 1/2 | To-tale | Eschare | Trace | Mort en 2 j. 1/2 | 0 | 0 | 0 |
| 0,4 ^{mgr} | Eschare | In-comp. | 0 | 0 | Petite eschare | 0 | 0 | 0 |
| 0,01 ^{mgr} | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

On constate que la ricine reste localisée en majeure partie dans l'albumen; on n'en trouve qu'une très faible quantité dans la plantule pendant la germination; comme elle s'atténue peu à peu dans l'albumen, on a l'impression qu'au fur et à mesure qu'elle pénètre dans la plantule, elle y est détruite par un processus particulier, sur lequel nous ne savons encore rien de précis. Ce ne semble pas être une digestion par une diastase « ordinaire »; en effet, nous avons préparé un mélange d'une petite quantité de ricine et d'une préparation de plantules (précipité alcoolique); après filtration à la bougie et répartition dans des tubes stériles, nous avons titré la toxicité du mélange, puis nous l'avons abandonné, pendant plus d'un mois, à l'étuve à 33 degrés; en titrant le mélange toutes les semaines, nous n'avons observé aucune atténuation de sa toxicité.

2^e ÉTUDE DES MACÉRATIONS DE PLANTULES ET D'ALBUMENS

Les macérations de graines sont obtenues par broyage en présence d'eau physiologique; après quelque temps de contact, on filtre sur filtre humide. Dans ces conditions, on obtient un liquide clair très actif. La même méthode est suivie pour les albumens des graines germées. Pour obtenir les macérations de plantules, on broie celles-ci avec de l'eau physiologique, on exprime dans un linge et on centrifuge.

Les faits énoncés dans la première partie de ce travail se trouvent confirmés dans cette seconde série d'expériences ; mais avec les macérations, les phénomènes sont plus compliqués qu'avec les précipités alcooliques, comme d'ailleurs on pouvait le penser *a priori* étant donnée la complexité de composition chimique que peut avoir un extrait aqueux de plante. A un certain moment de la germination, nous avons pu observer l'apparition dans les macérations :

1^o d'une hémolysine qui accompagne l'agglutinine à la fois dans l'albumen et dans la plantule ;

2^o d'une substance toxique pour la souris, résistante à l'ébullition, non précipitable par l'alcool.

Afin de pouvoir mieux étudier ces faits, nous considérerons séparément l'action sur les hématies et l'action toxique sur les animaux que nous avions rapprochées dans la première partie du travail.

1. — ACTION SUR LES HÉMATIES.

Les hématies employées sont des hématies de lapin lavées, en suspension à 3 p. 100 dans l'eau physiologique. On ajoute à 1 cent. cube de cette suspension des quantités variées de macérations amenées au volume constant de 1 cent. cube, par des dilutions successives dans l'eau physiologique.

Dans une première série d'essais nous avons préparé les macérations de plantules provenant de germinations à l'étuve à 30 degrés après 5, 12 et 24 jours. Une plantule correspond à environ 2 cent. cubes de macération centrifugée. Voici les résultats observés après 24 heures :

| VOLUME de . macération. | PLANTULES DE | | |
|-------------------------------|----------------------|-------------------------------------|---------------------------|
| | 5 jours. | 12 jours. | 24 jours |
| 1 c. c. | Hémolyse totale. | Hémolyse totale. | Agglutination incomplète. |
| 0,1 c. c. | Hémolyse incomplète. | Hémolyse légère et agglut. incompl. | Trace d'agglutination. |

Ainsi, alors qu'au départ on observe seulement dans la graine de ricin la présence d'une agglutinine, nous voyons apparaître à côté de celle-ci, après quelque temps de germination, une hémolysine dans la plantule; la présence de cette hémolysine s'observe pendant un certain temps, puis elle disparaît et les propriétés de la petite quantité d'agglutinine encore présente apparaissent seules.

La propriété hémolytique des macérations est détruite par chauffage à 100 degrés; par chauffage à 55 degrés elle est atténuée; on continue à observer l'agglutination aux deux doses étudiées. Le sérum antiricinique de chèvre (préparé par M. Truche) n'empêche pas l'hémolyse: 1 cent. cube de macération + 1/10 de cent. cube de sérum anti donne, après une demi-heure de contact, les mêmes résultats qu'un mélange au sérum normal sur les hématies de lapin.

Dans une seconde série d'essais, nous avons recherché si l'hémolysine apparaissait aussi dans l'albumen, et nous avons comparé les macérations d'albumen et de plantules aux macérations de graines non germées, obtenues dans les mêmes conditions. La germination a eu lieu à la température du laboratoire en décembre, c'est-à-dire assez lentement.

1 cent. cube de macération = 1 graine ou un albumen; pour les plantules il n'a pas été possible d'obtenir un volume constant, correspondant à une plantule pour les différentes préparations; la quantité d'eau absorbée par les plantules et qui en sort par simple expression fait que les préparations sont d'autant plus diluées que la germination est plus avancée: dans les expériences ci-dessous le volume de liquide correspondant à une plantule varie de 1 cent. cube à 2,3 cent. cubes.

Le tableau suivant présente les résultats obtenus (mêmes conditions expérimentales que dans les essais antérieurs).

Dans les conditions de cette germination, on voit au 10^e jour l'hémolysine apparaître dans les plantules, alors que les albumens ne renferment que l'agglutinine; mais au 15^e jour l'hémolysine est présente dans les deux parties de la jeune plante. Elle disparaît progressivement dans la suite, et, au 40^e jour, les plantules ne présentent plus qu'un faible pouvoir agglutinant.

| VOLUME de macération. | GRAINES non germées. | PLANTES DE | | | | | | | |
|-----------------------------|----------------------------|------------|------------|--------------|-------------|-------------|--------|-----------|--|
| | | 10 jours. | | 15 jours. | | 24 jours. | | 40 jours. | |
| | | Album. | Plant. | Album. | Plant. | Album. | Plant. | Plantul. | |
| 1 ^{cc} | A ++ (1) | | H ±± | | H ++ | H + | H ++ | A + | |
| 0,1 ^{cc} | A ++ | A ++ | H + A + | A ++ H ++ | H ++ A + | A ++ H + | H + | 0 | |
| 0,01 ^{cc} | A ++ | A ++ | 0 | A ++ H + | 0 | A ++ | 0 | 0 | |
| 0,001 ^{cc} | A ++ | A ++ | 0 | A + | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 0,0001 ^{cc} | A + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

(1) A ++ : Agglutination totale.
A + : Agglutination incomplète.
H ++ : Hémolyse nette.
H ± : Hémolyse légère.

Nous avons dit précédemment que le chauffage à 55 degrés atténue l'hémolysine, sans toucher sensiblement à l'agglutinine. Nous avons étudié systématiquement l'action de la chaleur sur les propriétés hémolytique et agglutinante des macérations de la germination à température ordinaire.

II. ACTION DE LA CHALEUR SUR L'AGGLUTININE ET L'HÉMOLYSINE.

L'agglutinine des macérations de graines non germées n'est pas sensible à un chauffage d'une demi-heure à 60 degrés et même d'un quart d'heure à 80 degrés; elle est donc très résistante à la chaleur (4).

L'hémolysine au contraire est relativement thermolabile; chauffée une demi-heure à 55 degrés elle est atténuée; chauffée une demi-heure à 60 degrés elle est complètement détruite et les macérations ainsi traitées ne présentent plus que le pouvoir agglutinant. Le tableau suivant témoigne de ces faits :

(1) Il en est de même de la toxine. Ces macérations tuent encore le cobaye en 1 jour et demi, à la dose de 0,01 c. c., après chauffage d'une demi-heure à 60 degrés, ou d'un quart d'heure à 80 degrés. Il faut atteindre 100 degrés pour que la toxicité soit détruite.

| VOLUME de macération. | MACÉRATION D'ALBUMENS DE 15 JOURS | | |
|-----------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|------------------------|
| | Non chauffée. | 1/2 heure à 55 degrés. | 1/2 heure à 60 degrés. |
| 0,1 c. c. | Agglutination et hémol. nette. | Agglutination et hémol. faible. | Agglutination seule |
| 0,01 c. c. | Agglutination et trace d'hémol. | Agglutination et trace d'hémol. | Agglutination seule. |
| 0,001 c. c. | Trace d'agglutin. | Trace d'agglutin. | Trace d'agglutin. |

| MACÉRATION DE PLANTULE DE 15 JOURS | | | |
|------------------------------------|----------------------------|----------------------------------|----------------|
| 1 c. c. | Hémol. complète et rapide. | Hémolyse nette et agglutination. | Agglutination. |
| 0,1 c. c. | Hémol. nette ; agg. | 0 | 0 |

Nous pouvons donc résumer ce paragraphe de notre travail de la façon suivante :

Il apparaît à une certaine période de la germination, à la fois dans l'albumen et la plantule, mais plus rapidement dans cette dernière, une hémolysine. Cette hémolysine est thermolabile; elle est détruite à 60 degrés, alors que l'agglutinine qu'elle accompagne est plus stable et résiste à 80 degrés. L'hémolysine disparaît dans la suite de la croissance de la plante, assez rapidement pour que l'on n'en trouve plus trace au 24^e jour, dans une germination à 30 degrés. L'hémolysine n'est pas sensible à l'action empêchante de sérum antiricinique; elle est détruite par précipitation des macérations par l'alcool; en effet, nous n'en avons pas trouvé trace dans nos premiers essais, faits avec des précipités obtenus par deux traitements à l'alcool; une seule précipitation par l'alcool suffit d'ailleurs pour l'atténuer considérablement.

III. — ACTION TOXIQUE.

Dans l'étude de l'action toxique des macérations, nous retrouvons le phénomène de disparition de la ricine pendant la germination; nous constatons de nouveau que très peu de toxine passe dans la plantule.

Voici les résultats obtenus sur le cobaye, dans une germina-

tion lente (température du laboratoire en hiver), avec les macérations d'albumens.

| QUANTITÉ injectée. | GRAINES | ALBUMENS DE | | |
|-----------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------|----------------------|
| | | 10 jours. | 15 jours. | 24 jours. |
| 1 ^{cc} " | Mort dans la nuit. | Mort en moins de 1 jour. | Mort en 1 jour 1/2. | Mort en 1 jour 1/2. |
| 0,1 ^{cc} | Mort en moins de 1 jour. | Mort en moins de 1 jour. | Mort en 1 jour 1/2. | Mort en 2 jours 1/2. |
| 0,01 ^{cc} | Mort en 1 jour 1/2. | Mort en 1 jour 1/2. | Mort en 2 jours. | Mort en 6 jours 1/2. |
| 0,001 ^{cc} | Eschare étendue. | " | " | " |

Avec les plantules de 10 à 40 jours correspondantes, on n'obtient, chez le cobaye, qu'une eschare locale par injection de 1 cent. cube de macération. L'importance de l'eschare décroît avec l'âge des plantules. La macération des plantules de 40 jours contenait encore de petites quantités de ricine, car elle tuait la souris en 2 à 3 jours pour 1/2 cent. cube (des témoins bouillis ne donnant rien sur la souris).

On voit nettement combien la ricine reste localisée dans l'albumen. Dans l'expérience ci-dessus, sa disparition est très lente dans l'albumen, la germination étant faite à basse température.

La très faible toxicité des macérations de plantules pour le cobaye nous a amené à faire la recherche de la ricine toxine sur la souris aux différents stades de la croissance. Nous avons alors constaté qu'une substance toxique, différente de la ricine, intervenait à une certaine période de la croissance des plantules.

Dans une première expérience, nous avions préparé une macération de plantules de 16 jours à 30 degrés. Sous la peau et dans le muscle, le cobaye supportait l'injection de 4 cent. cubes de macération. Nous avons alors injecté à 3 souris 1/2 cent. cube de macération : 3 heures après, elles étaient mortes. L'expérience, recommencée en faisant des témoins avec macération bouillie (un quart d'heure à 100 degrés), nous a montré que le même phénomène se reproduisait avec ces derniers.

Nous nous trouvions donc en présence d'une substance toxique autre que la ricine, résistant au chauffage à 100 degrés et provoquant rapidement la mort. Dans quelques cas nous avons vu dans un lot de souris un animal ou deux résister à cette intoxication rapide ; si l'animal passe les premières heures, il est sauvé. Nous en avons ainsi vu se remettre après un malaise de quelques heures et nous avons pu les conserver pendant plusieurs semaines après l'injection.

Nous avons cherché à déterminer l'époque de l'apparition de cette substance toxique dans la plantule. Une série de germinations a été mise à l'étuve à 30 degrés. *Au bout de cinq jours*, nous déterminons la toxicité de la macération obtenue (1 plantule = 1,5 cent. cube de liquide).

3 souris reçoivent 1/2 cent. cube sous la peau : pas de mort immédiate ; mais elles meurent en 1 jour 1/2 et 3 jours 1/2 (deux expériences concordantes).

3 souris reçoivent 1/2 cent. cube de la même macération bouillie ; elles n'ont rien.

Nous nous trouvons en présence de ricine seulement et non pas de la substance toxique résistante à l'ébullition. D'ailleurs, la macération étant précipitée par l'alcool, on fait une solution du précipité à raison de 1 centigramme par cent. cube : l'injection sous la peau du cobaye provoque une eschare typique.

Au bout de 12 jours nous faisons une nouvelle préparation (1 plantule = 1,8 cent. cube de liquide).

3 souris reçoivent 1/2 cent. cube de liquide frais sous la peau : 2 meurent dans la nuit, une troisième résiste et 8 jours après elle est encore en bonne santé.

3 souris reçoivent 1/2 cent. cube de liquide bouilli pendant un quart d'heure : elles meurent dans la nuit.

A cette époque de la germination, le corps thermostable toxique se trouve présent dans la plantule, alors qu'il manquait au 5^e jour.

Nous avons précipité la macération par l'alcool et essayé la toxicité, d'une part du précipité, d'autre part de la solution alcoolique débarrassée de l'alcool par concentration dans le vide et ramenée au volume primitif par de l'eau physiologique. Nous avons constaté que le précipité était dénué de toxicité pour la souris, tandis qu'au contraire le liquide alcoolique

avait gardé la totalité de l'action toxique. Le corps toxique thermostable n'est donc pas précipitable par l'alcool.

Au bout de 24 jours, nouvelle préparation, qui nous donne les mêmes résultats que la préparation de 12 jours.

Quelle est cette substance toxique, provoquant la mort par empoisonnement rapide, résistant à la chaleur, non précipitable par l'alcool ? Probablement un alcaloïde. La préparation de grandes quantités de jeunes plantes nous est nécessaire pour essayer d'en déterminer la nature. Peut-être s'agit-il de la ricinine. On ne trouve pas dans la littérature de données sur la toxicité de cet alcaloïde. Mais E. Schulze et E. Winterstein (1) ont constaté que la ricinine se trouve chez les jeunes plantes en quantité 12 à 15 fois plus grande que dans les graines. L'apparition du poison thermostable des plantules pourrait s'expliquer par la production de cette grande quantité de ricinine. La question demande à être étudiée, mais elle sortirait du cadre de notre présent travail.

En résumé, l'ensemble de ce travail nous permet de poser les conclusions suivantes :

La ricine toxine disparaît lentement dans la germination des graines de ricin ; elle reste objectivement localisée dans l'albumen ; on n'en trouve que très peu dans la plantule ; sa disparition coïncide avec le flétrissement de l'albumen.

Il en est de même de la ricine agglutinine ; cette dernière semble disparaître proportionnellement plus vite que la toxine.

Pendant une période assez courte de la croissance, à côté de l'agglutinine, une hémolysine apparaît, à la fois dans la planule et dans l'albumen ; cette hémolysine est thermolabile, détruite par précipitation alcoolique et insensible à l'action du sérum antiricinique. La question se pose de savoir si l'apparition de cette hémolysine présente un rapport quelconque avec la destruction de l'agglutinine.

A un certain moment de la germination, une substance toxique pour la souris, résistante à l'ébullition, non précipitable par l'alcool, apparaît dans la plantule ; sa nature n'est pas encore déterminée, mais tout porte à croire qu'il s'agit d'un poison alcaloïdique, peut-être de la ricinine.

(1) *Zeitsch. physiol. Chem.*, 1904, t. XLIII, p. 211-221.

ÉTUDES ÉPIDÉMIOLOGIQUES ET PROPHYLACTIQUES DU PALUDISME

ONZIÈME ET DOUZIÈME CAMPAGNES EN ALGÉRIE
EN 1912 ET 1913 (!)

par EDMOND SERGENT et ÉTIENNE SERGENT

(Institut Pasteur d'Algérie.)

ÉTUDES ÉPIDÉMIOLOGIQUES

Les années 1912 et 1913 ont été peu fiévreuses en Algérie, continuant ainsi une longue série d'années favorisées, depuis la formidable épidémie de 1904, dont le souvenir hante encore le colon. Malgré cette bénignité générale, il y eut, durant ces deux années, comme chaque année, des foyers de paludisme qui se sont allumés en certains endroits, par suite de la rencontre fortuite des facteurs déterminants des épidémies palustres. Une fois de plus, nous voyons ainsi que *le paludisme est une maladie locale*. Toute réserve étant faite au sujet des causes profondes de la virulence (génie épidémique des anciens, cycle pluri-annuel de A. Celli), on peut dire ceci : en un lieu donné, le danger de contamination et la gravité des attaques sont proportionnels au nombre d'anciens paludéens non traités (réservoir de virus); mais l'extension géographique de l'épidémie est limitée par la portée du vol des Anophélines autour de ce réservoir de virus.

C'est ainsi qu'on a vu, au milieu de régions relativement saines, éclater de petites épidémies de paludisme très distantes

(1) Campagne dirigée pour le compte du Gouvernement général de l'Algérie. Pour les campagnes précédentes, voir : *Annales de l'Institut Pasteur et Atti della Società per gli Studi della Malaria, Rome*. Les rapports complets publiés chaque année par le Gouvernement général de l'Algérie peuvent être demandés à l'Institut Pasteur d'Algérie.

les unes des autres : en 1912, à Maison-Carrée, aux abords du barrage de l'oued-Fergoug, dans la vallée de la Tafna. En 1913, à Batna, à Palikao. A Oued-el-Alleug en pleine Mitidja, en septembre 1913, à 30 kilomètres d'Alger, une violente épidémie : sur 300 personnes, aucune n'échappe au mal et 30 au moins en meurent.

I. — GITES A ANOPHÉLINES.

Les hivers 1911-1912 et 1912-1913 ont été très peu pluvieux, comme plusieurs de ceux qui les précédèrent. Cette sécheresse générale, qui, dans certaines régions, a tari des puits où, de mémoire d'homme, l'eau n'avait jamais manqué, a aussi contribué à supprimer de très nombreux gîtes à Anophélines.

Cependant, tant en 1912 qu'en 1913, la sécheresse a amené parfois ce fait paradoxal de la production de gîtes à Anophélines nouveaux : c'est qu'en effet la baisse de la nappe souterraine a transformé des lacs salubres en marécages pestilentiels, des oueds à eaux vives et courant continu en chapelets de mares et marelles stagnantes.

A Palikao, la transformation en marécage anophéligène d'un lac, inoffensif jusque-là, résulte d'une autre cause : ce lac, qui couvre un hectare environ, fournit l'eau potable aux habitants. Il est désherbé chaque année. En 1913, ce travail n'est pas exécuté, les joncs poussent avec vigueur, recouvrant rapidement la moitié de sa surface : les habitations les plus proches du lac sont envahies par les Anophélines nés dans ce gîte favorable et cette invasion d'Anophélines est bientôt suivie de celle du paludisme.

Nous devons signaler enfin l'existence de gîtes à Anophélines de l'espèce *Pyretophorus myzomyifacies* presque au niveau de la mer, à quelques mètres des vagues, dans des suintements d'eau douce sourdant de falaises marneuses (Aïn-Taya).

Une observation attentive nous a montré en 1912 que les trains qui traversent les marais de la Macta (département d'Oran) ou qui longent les bords du lac Fetzara (région de Bône) recueillent, à l'aube et au crépuscule, des essaims d'*Anopheles* que les wagons transportent au loin.

Les examens entomologiques ont montré que le *Pyretophorus myzomyifacies* d'Algérie existe aussi au Maroc, à Souk-el-Arba des Zemmour (exemplaires recueillis par le Dr Lapin). Nous savions déjà la présence d'*Anopheles maculipennis* dans le Maroc entier. A Mraier (Oued-Rhir) des *Pyretophorus chaudoyei* présentent certaines particularités dans la disposition des taches de l'aile (1).

II. — RÉSERVOIR DE VIRUS.

1° Tableaux des index endémiques.

Index endémiques relevés en 1912.

| | Proportion de grosses rates | Pourcentage |
|---------------------------------------|---|-------------|
| Enfants | $\left\{ \begin{array}{l} \text{de 0 à 5 ans. 144 sur 491} \\ \text{de 6 à 10 ans. 126 sur 689} \\ \text{de 11 à 15 ans. 321 sur 921} \end{array} \right\} 591 \text{ sur 2.101}$ | |
| Adultes au-dessus de 15 ans | 116 sur 1.104 | |
| Totaux. | 707 sur 3.205 | 23,5 p. 100 |

DÉPARTEMENT D'ALGER. — *Localités* : Birtouta, Boufarik, Attatba, Chiffa, Marengo, Montebello, Mouzaïaville, lit de l'oued Djer, Chéragas, El-Amri.

DÉPARTEMENT DE CONSTANTINE. — Mondovi, Penthievre, Bou-Otman.

DÉPARTEMENT D'ORAN. — Tourville, Sainte-Léonie, Port-aux-Poules, domaine de Chantrit.

Index endémiques relevés en 1913.

| | Proportion de grosses rates | Pourcentage |
|---------------------------------------|--|-------------|
| Enfants | $\left\{ \begin{array}{l} \text{de 0 à 5 ans. 27 sur 103} \\ \text{de 6 à 10 ans. 43 sur 193} \\ \text{de 11 à 15 ans. 27 sur 130} \end{array} \right\} 97 \text{ sur } 426$ | |
| Adultes au-dessus de 15 ans | 43 sur 270 | |
| Totaux. | 140 sur 696 | 21,6 p. 100 |

Localités : Attatba, Birtouta, Boufarik, Chéragas, Chiffa, Maison-Carrée, Marengo, Montebello, région de l'ancien lit de l'oued Djer, Oued-el-Alleug.

(1) Voir la description dans notre Rapport complet, Institut Pasteur, Alger.

2^o Tableaux des résultats des examens microscopiques du sang de sujets habitant des localités paludéennes.

| NOMBRE D'EXAMINÉS en 1912 | PARASITÉS par l'hématozoaire | | | CORPS en demi-lune | CORPS en pessaire | AVEC grosse rate |
|------------------------------------|---------------------------------|-------------------|--------|-----------------------|----------------------|------------------------|
| | Tierce maligne | Tierce bénigne | Quarte | | | |
| 22 fébricitants | 3 | 8 | 2 | 1 | 2 | 17 |
| 45 non fébricitants . . . | » | 6 | 1 | 3 | 7 | 37 |
| Totaux. | 3 | 14 | 3 | 4 | 9 | 54 |
| 20 à hématozoaire du paludisme. | | | | | | |

| NOMBRE D'EXAMINÉS en 1913 | PARASITÉS par l'hématozoaire | | | CORPS en demi-lune | CORPS en pessaire | AVEC grosse rate |
|-------------------------------------|---------------------------------|-------------------|--------|-----------------------|----------------------|------------------------|
| | Tierce bénigne | Tierce maligne | Quarte | | | |
| 87 fébricitants | 66 | 29 | 8 | 4 | 6 | 24 |
| 37 non fébricitants . . . | 8 | 4 | 1 | 4 | 4 | 30 |
| Totaux. | 74 | 30 | 9 | 8 | 10 | 54 |
| 113 à hématozoaire du paludisme. | | | | | | |

3^o Relation d'une épidémie localisée, très meurtrière,
due à un apport de virus exogène.

Durant l'été 1913, un groupe d'environ 300 indigènes du Sud, hommes, femmes et enfants, originaires de la région de Boghari, viennent s'installer pour travailler dans une ferme de la commune d'Oued-el-Alleug au milieu de la Mitidja. Cette région est fort marécageuse, et cette ferme était très malsaine autrefois; elle l'est beaucoup moins. Ses habitants, européens ou indigènes sédentaires, gagnant de bons salaires et vivant bien, se sont guéris, et le réservoir de virus autochtone est fort réduit.

Au contraire, les indigènes du Sud nouveau-venus (appelés Guebla), éternels errants des routes algériennes, portent un passé pathologique lourdement chargé, sont imprégnés de diverses infections, dont le paludisme. Travailleurs médiocres, ils gagnent des salaires fort bas, proportionnels au rendement de leur travail. Arrivant dans un pays marécageux, ils infectent les

Anophèles autochtones qui leur réinoculent leur propre virus multiplié : en septembre 1913, en 15 jours, sur 300 âmes environ, ils comptent 30 morts (il y a des morts non déclarées). Avertis par le dévoué Dr Plantier, nous vérifions au microscope le diagnostic d'épidémie massive de paludisme à forme pernicieuse. Nous multiplions, avec le Dr Plantier, les injections intramusculaires de quinine, et organisons la quininisation journalière de tout le groupement. L'épidémie fut enrayer aussitôt, et la population sédentaire voisine, européenne et indigène, fut préservée. Mais si le médecin, appelé par le colon, n'avait pas, dès le premier moment, pensé au paludisme et provoqué les mesures antipaludiques, ce virus importé aurait réinfecté gravement une région en voie d'assainissement.

Cette observation montre, une fois de plus, le danger, au point de vue de l'hygiène, des migrations non surveillées des indigènes, tour à tour cueilleurs et semeurs de virus.

4^o Fièvre bilieuse hémoglobinurique.

Quelques cas sont signalés à Batna, département de Constantine (Dr Mondelin), à Palikao, département d'Oran (Dr Hautefeuille).

ÉTUDES PROPHYLACTIQUES

1^o *L'amendement du réservoir de virus, par la quininisation des indigènes, anciens infectés, est la mesure la plus facile à appliquer partout en Algérie.*

Le nombre de personnes quininisées au moyen d'agents quininisateurs a été augmenté en 1913. Environ 3.500 personnes en ont profité, au lieu de 3.000 en 1912.

18 agents quininisateurs (au lieu de 16 en 1912) ont effectué des distributions de quinine sous la direction des médecins locaux ou du Dr Etienne Sergent.

39 institutrices et instituteurs (au lieu de 18 en 1912) ont quininisé leurs élèves à l'école :

2, à Attatba (printemps et automne); 1, à Montebello; 3, à l'Alma; 2, à Réghaïa; 1, au Corso; 6, à Mondovi; 2, à Penthievre; 7, à Jemmapes; 1, à Bayard; 1, à Lannoy; 2, à Foy; 1, à Robertville; 1, à Gastonville; 2, à Aïn-Khiar; 1, à Mexna; 1, à Siliana; 2, au Vieux-Biskra; 1, à El-Hannser; 1, à Tourville.

2^o *Les petites mesures antilarvaires donnent des résultats*

excellents, très nets, et sont applicables pratiquement dans de nombreuses localités.

3^o *La défense mécanique reste une mesure de luxe, applicable aux fonctionnaires de l'Administration ou des Compagnies de chemins de fer, et chez les particuliers soigneux de leur confort.*

Enfin la propagande antipaludique par les brochures, affiches et pancartes a été continuée comme les années précédentes.

I. — CHAMPS DE DÉMONSTRATION.

Parmi les champs de démonstration, le plus ancien, celui de *Montebello*, choisi dans l'un des endroits les plus tristement célèbres de toute l'Afrique du Nord pour son insalubrité, donne un exemple magnifique de l'efficacité des mesures antipaludiques bien surveillées.

En ce petit village les nouveau-nés étaient tous autrefois infectés au berceau; or, depuis 1904, date du commencement de la campagne, on n'a pas contracté un seul cas de paludisme à *Montebello*. Tous les enfants au-dessous de neuf ans ignorent le paludisme : et tous les enfants au-dessus de neuf ans ont été infectés. Deux mesures sont appliquées : antilarvaires, quininisation.

RÉSUMÉ DES 9^e ET 10^e CAMPAGNES A MONTEBELLO, DÉPARTEMENT D'ALGER.

Traités. — Européens : 74, 1 nouveau-né, en 1913; indigènes, 220.
0 cas de première invasion.

Rechutes très rares et très légères.

Témoins. — Localités voisines : 42 cas de première invasion (au moins); 3 décès en 1912, 34 décès (au moins) en 1913.

A *Tourville* et à *Sainte-Léonie*, champs de démonstration du département d'*Oran* dirigés par le Dr *Bories d'Arzew*, voici plusieurs années qu'aucun cas de paludisme ne s'est produit et que les nombreux enfants de ces populations prolifiques naissent et croissent sans fièvres. La bilieuse hémoglobinurie qui apparaissait annuellement autrefois jusqu'aux portes d'*Arzew* y est inconnue depuis le début de la campagne antipaludique (1906). Mesures appliquées : antilarvaires et quininisation.

RÉSUMÉ DES 7^e ET 8^e CAMPAGNES A TOURVILLE, DÉPARTEMENT D'ORAN.

Traités. — Européens : 800 environ, 28 nouveau-nés en 1912, 31 nouveau-nés en 1913 ; indigènes : 100.

0 cas de première invasion.

RÉSUMÉ DES 7^e ET 8^e CAMPAGNES A SAINTE-LÉONIE, DÉPARTEMENT D'ORAN.

Traités. — Européens : 250 environ, 13 nouveau-nés en 1913 ; indigènes : 100. 0 cas de première invasion.

A *Mondovi*, champ de démonstration du département de Constantine depuis 1907, les difficultés sont très grandes : l'apport hivernal de moustiques ailés du lac Fetzara rend la tâche du Dr Marbot et de ses dévoués collaborateurs particulièrement ardue. Pourtant les bons résultats de leurs efforts commencent à se faire sentir. Là, comme ailleurs, il faut procéder, pour établir son jugement, par comparaison avec des localités témoins, placées dans des conditions analogues, et ne profitant pas des mêmes mesures antipaludiques. La comparaison, poursuivie tous les ans, est convainquante.

Mesures appliquées : antilarvaires, quininisation, grillages aux habitations des fonctionnaires.

RÉSUMÉ DES 6^e ET 7^e CAMPAGNES A MONDOVI, DÉPARTEMENT DE CONSTANTINE.

Traités. — Européens : 900 environ, 100 nouveau-nés en 1912, 102 nouveau-nés en 1913 ; indigènes : 500.

En 1912, 5 cas de première invasion. Chez les anciens infectés, 2 cas d'hématurie chez deux enfants non quininisés.

En 1913, d'après le Dr Marbot, 4 cas de première invasion (un seul européen).

En août-septembre, d'après le Dr Parrot, pas un seul accès de paludisme.

Témoins. — Villages de Barral et de Guébar : 400 Européens, 61 nouveau-nés en 1912. D'après le Dr Marbot, en 1912, 9 cas de première invasion. En 1913, 10 cas de première invasion.

En août et septembre 1913, d'après le Dr Parrot, 38 cas de paludisme dans les villages voisins (1.133 Européens).

II. — CAMPAGNES ANTIPALUDIQUES.

Le Service antipaludique collabore à de nombreuses campagnes antipaludiques demandées par les populations et que dirigent les médecins résidents. Le nombre de ces campagnes

n'a d'autres limites que celles des crédits disponibles. Il y a eu 105 kilogrammes de bichlorhydrate de quinine distribués par le Service antipaludique durant l'année 1913.

DÉPARTEMENT D'ALGER. — *Plaine de la Mitidja* : Chéragas, Coléa, Attatba, région de l'ancien lit de l'oued-Djer, Marengo, Chiffa, Oued-el-Alleug, Boufarik, Birtouta, Gué de Constantine, domaine de l'Harrach à Maison-Carrée. Écoles de l'Alma, la Rhégaïa, du Corso.

Port-Gueydon, Adélia, Brazza, Vialar.

DÉPARTEMENT DE CONSTANTINE. — Gambetta, Penthievre, Robertville, École d'el Hannser, École de Jemmapes, École de Bayard, École de Lannoy, École de Foy, École de Siliana, École du Vieux-Biskra, Oued Hammimime, École de Mexna, École de Ain Khiar, Taher, Khenchela, Foum-el-Gueiss.

DÉPARTEMENT D'ORAN. — Arlal, Montagnac.

III. — ENQUÊTES.

En dehors de l'organisation de ces campagnes prophylactiques, le Service antipaludique a procédé, en 1912 et en 1913, à des enquêtes épidémiologiques demandées par l'État, des collectivités ou des particuliers dans des localités où de futurs centres de colonisation ou bien des exploitations agricoles sont projetés.

IV. — CHEMINS DE FER.

Les huit réseaux de chemins de fer algériens continuent à être l'objet, de la part de leurs directions, d'une protection antipaludique attentive. Sur le réseau de l'État deux agents spéciaux chargés de cette tâche s'en acquittent avec zèle : M. Labrousse (Ouest) et M. Petit (Est). Sur les autres réseaux les mesures antipaludiques sont ordonnées : sur le Bône-Guelma par M. l'ingénieur en chef, sur le Bône-Mokta-Saint-Charles par M. le directeur de Cerner, sur le P.-L.-M. par M. Treuvelot, sur l'Ouest-Algérien par M. l'ingénieur des services de Blida-Boghari et par M. l'ingénieur Elliker (Oranie), sur le Bône-La-Calle et sur le chemin de fer sur routes du département d'Alger, par MM. les directeurs de ces réseaux.

Nous avons l'agréable devoir de remercier de leur bienveillante collaboration nos confrères des trois départements algé-

riens, le Gouvernement général, les autorités départementales et communales, les ingénieurs et agents des Ponts-et-Chaussées, les ingénieurs et agents des chemins de fer, les institutrices et instituteurs.

Nous remercions enfin cordialement de leur collaboration M. Pellegrin, inspecteur du Service antipaludique, les quininisatrices et quininisateurs, qui ont compris la beauté de leur mission et la remplissent avec une conscience et une bonté exemplaires.

Grâce à la bonne volonté de tous, chaque année marque un progrès de l'œuvre antipaludique en Algérie. La prophylaxie contre le paludisme est surtout une affaire d'éducation. Cette éducation est poursuivie inlassablement à l'école : excellents manuels à l'usage du maître et à l'usage de l'élève, du Dr Parrot, planches murales, affiches et tracts, propagande par le fait au moyen de la quininisation scolaire. L'éducation du public se poursuit dans les gares, modèles de défense mécanique, et dans les champs de démonstration disséminés dans l'Algérie. Les champs de démonstration sont des leçons de choses permanentes, qui enseignent au colon la manière d'éviter le paludisme, et l'intérêt direct qu'il a à guérir les indigènes qui l'entourent.

LES VACCINATIONS ANTIRABIQUES

A L'INSTITUT PASTEUR EN 1913

par JULES VIAŁA, Préparateur au service antirabique.

Pendant l'année 1913, 330 personnes ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur; aucune mort n'a été signalée.

La statistique s'établit donc ainsi :

| | |
|------------------------------|-----|
| Personnes traitées | 330 |
| Morts | 0 |
| Mortalité, p. 100 | 0 |

Le tableau ci-dessous indique les résultats généraux des vaccinations, depuis l'origine :

| ANNÉES | PERSONNES TRAITÉES | MORTS | MORTALITÉ |
|--------|--------------------|-------|-------------|
| 1886 | 2.671 | 25 | 0,94 p. 100 |
| 1887 | 2.770 | 14 | 0,79 — |
| 1888 | 1.622 | 9 | 0,55 — |
| 1889 | 1.830 | 7 | 0,38 — |
| 1890 | 1.540 | 5 | 0,32 — |
| 1891 | 1.559 | 4 | 0,25 — |
| 1892 | 1.790 | 4 | 0,22 — |
| 1893 | 1.648 | 6 | 0,36 — |
| 1894 | 1.387 | 7 | 0,50 — |
| 1895 | 1.520 | 5 | 0,38 — |
| 1896 | 1.308 | 4 | 0,30 — |
| 1897 | 1.521 | 6 | 0,39 — |
| 1898 | 1.465 | 3 | 0,20 — |
| 1899 | 1.614 | 4 | 0,25 — |
| 1900 | 1.420 | 4 | 0,28 — |
| 1901 | 1.321 | 5 | 0,38 — |
| 1902 | 1.005 | 2 | 0,18 — |
| 1903 | 628 | 2 | 0,32 — |
| 1904 | 755 | 3 | 0,39 — |
| 1905 | 721 | 3 | 0,41 — |
| 1906 | 772 | 4 | 0,13 — |
| 1907 | 786 | 3 | 0,38 — |
| 1908 | 524 | 1 | 0,19 — |
| 1909 | 467 | 1 | 0,21 — |
| 1910 | 401 | 0 | 0,00 — |
| 1911 | 341 | 4 | 0,29 — |
| 1912 | 395 | 0 | 0,00 — |
| 1913 | 330 | 0 | 0,00 — |

Les personnes traitées à l'Institut Pasteur sont divisées en trois catégories, correspondant aux tableaux suivants :

Tableau A. — La rage de l'animal mordeur a été expérimentalement constatée par le développement de la maladie chez les animaux mordus par lui ou inoculés avec son bulbe.

Tableau B. — La rage de l'animal mordeur a été constatée par examen vétérinaire.

Tableau C. — L'animal mordeur est suspect de rage.

* * *

Nous donnons ci-après la répartition, entre ces catégories, des personnes traitées en 1913.

| ANNÉE 1913 | MORSURES à la tête | | | MORSURES aux mains | | | MORSURES aux membres | | | TOTALS | | |
|--------------------|-----------------------|-------|-----------|-----------------------|-------|-----------|-------------------------|-------|-----------|---------|-------|-----------|
| | Traités | Morts | Mortalité | Traités | Morts | Mortalité | Traités | Morts | Mortalité | Traités | Morts | Mortalité |
| Tableau A. | 20 | 0 | 0 | 43 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 73 | 0 | 0 |
| Tableau B. | 16 | 0 | 0 | 67 | 0 | 0 | 30 | 0 | 0 | 113 | 0 | 0 |
| Tableau C. | 19 | 0 | 0 | 84 | 0 | 0 | 41 | 0 | 0 | 144 | 0 | 0 |
| | 55 | 0 | 0 | 194 | 0 | 0 | 81 | 0 | 0 | 330 | 0 | 0 |

Au point de vue de leur nationalité, les personnes traitées se répartissent de la façon suivante :

| | |
|----------------------------|-----|
| France | 343 |
| Luxembourg | 4 |
| Grèce. | 1 |
| Italie | 1 |
| Russie | 1 |
| Espagne | 2 |
| Maroc | 6 |
| Guinée Française | 2 |

Répartition par départements des 313 Français traités.

| | | | |
|---------------------------|----|-------------------------------|----|
| Aisne | 4 | Orne | 6 |
| Aveyron | 8 | Pas-de-Calais | 2 |
| Ardennes | 7 | Puy-de-Dôme | 7 |
| Cantal | 2 | Pyrénées (Basses) | 2 |
| Calvados | 6 | Pyrénées (Hautes-) | 4 |
| Côte-d'Or | 2 | Pyrénées-Orientales | 2 |
| Corrèze | 4 | Sarthe | 7 |
| Finistère | 2 | Saône (Haute-) | 3 |
| Ille-et-Vilaine | 14 | Savoie | 4 |
| Indre-et-Loire | 6 | Seine-Inférieure | 13 |
| Isère | 2 | Seine-et-Marne | 5 |
| Loir-et-Cher | 4 | Seine-et-Oise | 14 |
| Lot | 17 | Seine | 95 |
| Manche | 10 | Somme | 18 |
| Maine-et-Loire | 4 | Vendée | 7 |
| Mayenne | 11 | Vienne | 4 |
| Meuse | 4 | Vosges | 7 |
| Nièvre | 4 | Yonne | 2 |

Le Gérant : G. MASSON.